Medical Lib

Über die Wirkungen parenteral verabreichten bestrahlten und unbestrahlten Ergosterins

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität Greifswald

vorgelegt von

Kurt Briola

Medizinalpraktikant aus Greifswald.

Greifswald

Buchdruckerei Hans Adler, Inh.: E. Panzig & Co.

1930.

Eingereicht im Oktober 1930

Gedruckt mit Genehmigung
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Greifswald
Dekan: Professor Dr. Dresel
Referent: Prof. Dr. Degkwitz.

Die im Vordergrund des ärztlichen Interesses stehenden Lipoide und deren mächtige klinische Wirkungen, das weibliche Sexualhormon, das Vitamin A, das bestrahlte Ergosterin veranlaßten Degkwitz und seine Mitarbeiter, nach dem Wirkungsmechanismus dieser Stoffe zu suchen.

Aus taktischen Gründen wurde zuerst versucht, die Einflüsse normaler lipoider Zellbausteine, die zu jeder Zeit in jeder Zelle enthalten sind, auf einfache Reaktionen zu prüfen und deren Wirkungsmechanismen in bekannte chemische oder physikalische Gesetzmäßigkeiten einzuordnen.

Zum Studium der Lipoidwirkungen schien es zuerst notwendig, den Sammelbegriff Lipoide aufzulösen. Die Klassifizierung dieser Körperklasse lediglich nach ihrem Verhalten zu Fettlösungsmitteln erschien für biologische Fragestellungen als zu einseitig. Dazu mußten sie zu mindestens auch noch nach ihrem Verhalten zum anderen Hauptlösungsmittel des Protoplasmas, zum Wasser charakterisiert werden. Sämtliche zu jeder Zeit in jeder Zelle vorhandenen Zelllipoide, das Neutralfett, das freie, das veresterte Cholesterin, die einwertigen Seifen von der Laurinsäure aufwärts, mehrwertige Seifen und die Phosphatide treten im Wasser in kolloidaler Form auf. Sie zerfallen aber, nach ihrem Verhalten zum Wasser charakterisiert, in zwei physikalisch-chemisch außerordentlich differente Körperklassen: in hydrophile und hydrophobe Kolloide. Hydrophile Kolloide: Phosphatide, einwertige Seifen; hydrophobe Kolloide: Neutralfett, freies und verestertes Cholesterin, mehrwertige Seifen. Die Zellkolloide nach diesem Gesichtspunkt rangiert, zerfallen dann in hydrophiles Eiweiß, einwertige Seifen und Phosphatide und hydrophobes Neutralfett, freies, verestertes Cholesterin, mehrwertige Seifen.

Hydrophilie und Hydrophobie sind in beiden Kolloidklassen verschieden groß. Das Neutralfett nimmt unter den hydrophoben Kolloiden insofern eine Sonderstellung ein, als es in Wasser völlig unlöslich und mit Wasser völlig unbenetzbar ist, während das freie, vor allem das veresterte Cholesterin eine deutlichere Verwandtschaft zum Wasser haben. Wie auf der lipophilen und hydrophoben Seite die Verwandtschaft zum anderen Lösungsmittel verschieden groß ist, differieren auf der hydrophilen und lipophoben Seite die Verwandtschaften zum Fett. Eiweiß hat die geringste, die Phosphatide und einwertigen Seifen eine deutliche Verwandtschaft zum Neutralfett.

Degkwitz und seine Mitarbeiter gingen nun von folgenden Gesichtspunkten aus: Die beiden protoplasmatischen Hauptlösungsmittel, Wasser und Neutralfett, haben zu einander gar keine Beziehungen, sie sind ineinander völlig unlöslich und mit einander völlig unbenetzbar. Sie sind Extreme auch insofern, als das Wasser eine polare, das Fett eine apolare Flüssigkeit ist. Jedes von ihnen enthält aber Stoffe, die zum anderen Lösungsmittel ein gewisse Verwandtschaft haben. An der Grenzfläche Fett-Wasser ist die Mehrzahl der in ihnen enthaltenen Zellbestandteile grenzflächenaktiv. Unter ihnen nehmen aber die eine Sonderstellung ein, die im Wasser und damit an der Grenzfläche Fett-Wasser in kolloidaler Form auftreten. Grenzflächenaktive Kolloide werden an die Grenzfläche Fett-Wasser adsorbiert, erniedrigen die Grenzflächenspannung und nehmen auf die zum Ablauf des Lebens notwendige innige Verteilung von Fett und Wasser ineinander Einfluß. Je nach der größeren Verwandtschaft eines Grenzflächenkolloides zum Wasser oder zum Fett muß sein Einfluß auf die Verteilungsart dieser beiden Lösungsmittel ineinander verschieden sein.

Schüttelt man die beiden protoplasmatischen Hauptlösungsmittel, Neutralfett und Wasser mit einzelnen Zellkolloiden, so zeigt sich folgendes:

O/W Emulsion Dispergierung von Fett in H_2O:	W/O Emulsion Dispergierung von H_2O in Fett:
Eiweiß	Cholesterin
Lecithin	Cholesterinester
Einwertige Seifen (Laurinsäure aufwärts)	Mehrwertige Seifen
OH	H+
Cl′	Ca++
PO_4'''	Mg++
SO_3''	Fe+++

Hydrophile Kolloide dispergieren Fett in Wasser, hydrophobe Wasser in Fett. Eine Dispersion von Fett in Wasser wird O/W, eine Dispersion von Wasser in Fett W/O Emulsion genannt. Die makroskopische Beschaffenheit beider Dispersionsarten hängt weitgehend von der Konzentration ihrer inneren Phase ab. Ist diese genügend konzentriert, so sind beide Verteilungsarten halbfest und plastisch. Es sind schon 99 ccm Fett in 1 ccm Wasser und ca. 90 ccm Wasser in 1 ccm Fett dispergiert worden. Was aber eine O/W und eine W/O stets unterscheidet, ist, daß eine O/W unter allen Umständen mit Wasser verdünnbar ist und den elektrischen Strom leitet, während eine W/O wasserundurchlässig und nur mit Fett verdünnbar ist und den elektrischen Strom nicht leitet. Da nun die Zellipoide, nach ihrem Verhalten zum Wasser charakterisiert in hydrophile und hydrophobe Kolloide zerfallen, da sie an der Grenzfläche der beiden protoplasmatischen Hauptlösungsmittel Neutralfett und Wasser, grenzflächenaktiv sind und damit auf die zum Ablauf des Lebens notwendige innige Verteilung der beiden Lösungsmittel ineinander Einfluß nehmen müssen und da dieser Einfluß in einfachen Systemen deutlich nachweisbar verschieden ist, wurde von Degkwitz und seinen Mitarbeitern der Schwerpunkt der Lipoidwirkung in ihrer Rolle als Brückensubstanz zwischen Fett und Wasser, als Grenzflächen-

bildner und damit als Determinanten der Protoplasmastruktur gesucht.

Es mußte vorerst die Frage entschieden werden ob sich in komplizierten, an hydrophilen Kolloiden reichen Systemen die in einfachen Systemen beobachtete Wirkung der hydrophoben Kolloide auf die Verteilung von Wasser und Fett ineinander nachweisen und messen ließe. Biologisch ist die von einfachen Systemen her bekannte Wirkung der hydrophoben Kolloide auf die Verteilung von Fett und Wasser ineinander kaum in Erwägung gezogen worden. Nur einmal wurden von Clowes derartige Gedanken geäußert, dem die fettentmischende und phasenumkehrende Wirkung der mehrwertigen Seifen aus einfachen Systemen bekannt war und der die Hypothese aufstellte, daß die zweiwertigen Seifen an den Zellgrenzschichten die gleiche Wirkung hervorriefen wie in einfachen Systemen und dadurch permeabilitätsändernd wirken. Ihm wurde von Seiffritz entgegengehalten und von Spranger bestätigt, daß mehrwertige Seifen in Gegenwart von außerordentlich geringen Mengen hydrophiler Kolloide (Eiweiß, Phosphatide) Fett nicht entmischen können und zu einer Phasenumkehr nicht fähig sind. Die Wirkung des freien und veresterten Cholesterins an der Grenzfläche Fett/Wasser und ihre Beziehungen zur biologischen Wirksamkeit des Cholesterins wurden noch garnicht in Erwägung gezogen.

In den Lehrbüchern der physikalischen Chemie der Zelle und Gewebe stößt man immer wieder auf Äußerungen, daß die Lehre von den hydrophilen Kolloiden der eigentliche Boden sei, aus dem die Biologie Nahrung zieht. Von den Erfahrungen mit hydrophoben Metallsuspensionen ausgehend, die außerordentlich empfindlich gegen Ionenwirkung sind, denen man aus diesem Grunde hydrophile Schutzkolloide zusetzt, welche die Metallmassenteile umhüllen und vor der Ionenwirkung schützen, so daß sich dann die Reaktionen in einem solchen System im rein hydrophilen Milieu abspielen,

nimmt man an, daß wegen der Menge der hydrophilen Zellkolloide, verglichen mit den hydrophoben, für die Struktur und Funktion des Protoplasmas lediglich die Reaktionen der hydrophilen Kolloide mit dem Wasser und den Ionen ausschlaggebend sind. Man setzt im allgemeinen das Neutralfett den hydrophoben Metallsuspensionen gleich, vergißt aber dabei, daß aus dem Neutralfett hydrophobe Kolloide an die Grenzfläche Fett/Wasser drängen (Cholesterine) und gemischte Grenzkolloidhäute (hydrophil/hydrophob) entstehen die je nach der Konzentration jeder der beiden Kolloidarten in ihnen ionenstabil oder ionenlabil sein können. Außerdem wird dabei die eventuell verschiedene Intensität der physikalischen Wirkungen der hydrophilen und hydrophoben Kolloide nicht in Rechnung gesetzt, eine verschiedene Grenzflächenaktivität und eine verschieden starke emulgatorische Wirkung, die beide eine Funktion der verschiedenen Verwandtschaftsgrade der Grenzkolloide zu den beiden Lösungsmitteln sind.

Die Frage, ob in Modellösungen, die ihrem Ionen- und Kolloidgehalt nach dem Protoplasma glichen, die fettentmischende und phasenumkehrende Wirkung der Cholesterine auf die Verteilung von Fett und Wasser ineinander nachweisbar und messbar sind, wurde an der Universitäts Kinderklinik Greifswald (Spranger, Biochemische Zeitschrift Bd. 218) mit Viskositätsmessungen, Färbe- und Leitfähigkeitsversuchen geprüft. Es wurde von Ringer-Triolein-Gemischen ausgegangen und diesen die verschiedenen Zellkolloide einzeln oder in Gruppen zugesetzt. Von den hydrophilen Kolloiden ist das Lecithin ceteris paribus ein etwas besseres Dispersionsmittel für Fett in Wasser als Albumin und einwertige Seifen. Albumin + Lecithin erweisen sich über eine Additionswirkung hinausgehend als das beste Dispersionsmittel für Fett in Wasser. Wird nun in ein System Ringer-Albumin-Triolein als Antagonist des Albumins freies Cholesterin eingeführt (Siehe Schema Seite 5), so ist ein Antagonismus Albumin/Cho-

lesterin bei beiderseitigen Blutserumkonzentrationen nicht nachweisbar. Das Gleiche gilt von Albumin/Cholesterinester. Wird aber in ein System Triolein-Albumin-Lecithin Cholesterin als Antagonist eingeführt, so wird die entmischende Wirkung des Cholesterins messbar: die innere Reibung des Gemisches sinkt. Ceteris paribus ist die Wirkung höherer Cholesterinester wesentlich stärker und führt zu grob sichtbaren Entmischungen. Wurden Modellösungen verwandt, deren Ionen- und Kolloidgehalt pathologischen Geweben glich, so konnten grobe Entmischungen, ja partielle W/O Emulsionen beobachtet werden. Spranger zeigte, daß es vor allem die Phosphatide und Cholesterine sind, die auf Umfang und Verteilungsart von Fett und Wasser ineinander den stärksten Einfluß nehmen und damit Hauptdeterminanten für die Struktur dem Protoplasma gleichender Modellösungen sind. Aber auch Störungen in der Mengenkorrelation anderer Zellkolloide, Vermehrung von Albumin, von Triolein, von einwertigen Seifen führten messbare Veränderungen der Aufteilung von Fett und Wasser ineinander herbei, wenn dabei auch größere absolute Mengenveränderungen notwendig waren. Degkwitz (Klinische Wochenschrift 1929) legte sich nun die Frage vor, ob die von Spranger in biologischen Modellösungen beobachteten Erscheinungen auch für das lebende Protoplasma Geltung haben: daß eine Anderung in der Mengenkorrelation der in einem System vorhandenen Kolloide die Verteilung von Fett und Wasser ändert (Umfang der Grenzfläche, Verteilungsart) und damit die Struktur protoplasmatischer Gebilde, und daß die Cholesterine und Phosphatide die wirksamsten Faktoren für die Verteilung von Fett und Wasser ineinander und damit für die Struktur biologischer Modellösungen sind.

Als Beweis, daß für das lebende Protoplasma die gleichen Gesetze gelten wie für biologische Modellösungen, hielt Degkwitz 3 Voraussetzungen für notwendig:

1. Es mußte gelingen, durch die Applikation einzelner lipoider Zellbausteine in physiologischen Konzentrationen

an Zellen Reaktionen zu erzielen. Die Applikation eines Einzellipoides bedeutet eine Störung der Mengenkorrelation der Zellipoide und ging in Modellösungen mit Zustandsänderungen einher.

2. Veränderte Zellreaktionen konnten auf Zustandsänderungen der Zellstruktur zurückgeführt werden, wenn es gelang, solche Zellreaktionen nicht nur regelmäßig hervorzurufen, sondern durch die Applikation antagonistisch gerichteter Kolloide in physiologischen Konzentrationen ohne Rücksicht auf deren chemische Beschaffenheit zu verhüten.

3. Die beobachteten Zellreaktionen mußten auf Zustandsänderungen zurückzuführen sein, wie sie Spranger in Modellösungen beobachtet hatte.

Degkwitz gelang es, 150—200 Paramaecien mit Natrium-Oleat in einer Konzentration von 0,1%, mit Lecithin Konzentrationen von 0,007%, mit Triolein Konzentrationen von 0,03%, mit Cholesterin-Konzentrationen von 0,009%, mit Cholesterinester-Konzentrationen von 0,007% nach einigen Stunden zu töten. Die Lipoide wurden in gut dispersem Zustande der Paramaecien-Aufschwemmung zugesetzt. Es gelang aber nicht nur die Tiere zu vergiften, sondern den sicher zu erwartenden Tod mit physikalisch entgegen gerichteten Kolloiden ohne Rücksicht auf deren chemische Beschaffenheit zu verhüten. Brachte er eine untertödliche Dosis eines Einzellipoides an die Tiere heran und 8—10 Stunden später eine einfach oder mehrfach tödliche Dosis eines anderen, zo zeigte ich, daß vor hydrophilen Kolloiden nur hydrophobe schützen und umgekehrt ohne Rücksicht auf deren chemische Beschaffenheit. Wurden gleichzeitig mehrere Lipoide an die Tiere herangebracht, so zeigte sich parallel dem Loeb'schen Ionenantagonismus, daß solche Lipoidkombinationen am ungiftigsten sind, die in ihrer Mengenkorrelation der Lipoidkonzentration gleichen, wie man sie im Serum der Säugetiere findet. Aus den Vergiftungsversuchen geht hervor, daß der durch Einzellipoide verursachte

Tod nicht auf Molekularreaktionen, sondern auf Zustandsänderungen zurückgeführt werden muß, denn zur Verhütung dieses Todes waren physikalisch entgegengerichtete Kolloide ohne Rücksicht auf deren chemische Beschaffenheit notwendig. (Prämisse 1 + 2).

Um der Prämisse 3 zu genügen, wurden nun von Spranger Permeabilitätsstudien an roten Blutkörperchen angestellt. Diese Untersuchungen an roten Blutkörperchen sollten darüber Auskunft geben, woran die Degkwitz'schen Paramaecien gestorben waren, und sollten Tatsachenmaterial darüber verschaffen, ob die durch die verwandten Lipoide am lebenden Protaplasma hervorgerufenen Zustandsänderungen als solche Zustandsänderungen aufgefaßt werden müßten, wie sie Spranger in Modellösungen beobachtet hatte.

Degkwitz und seine Mitarbeiter hielten es für außerordentlich wahrscheinlich, daß in die Umspülungsflüssigkeit von Zellen gebrachte gut disperse Lipoide mit den Lipoiden der Zellgrenzschichten reagieren und permeabilitätsändernd wirken müßten. Aus der Art der Permeabilitätsänderung schienen Schlüsse auf die Art der Zustandsänderungen an der Zellgrenzschicht zulässig.

Von Spranger wurden im 218. Bd. Heft 4—6 und im 221. Bd. Heft 4 – 6 der Biochemischen Zeitschrift Untersuchungen über die Wasser-, Säure- und Basenresistenz mit Kolloiden vorbehandelter roter Blutkörperchen berichtet.

Gewaschene rote Blutkörperchen von Schaf und Menschen wurden mit isotonischen Traubenzuckerlösungen vorbehandelt, die hochdisperse Suspensionen von Neutralfett, Cholesterin oder Cholesterinester, oder hochdisperse Lösungen von Lecithin, einwertigen Seifen oder Albumin in Blutserumkonzentration enthielten. Die roten Blutkörperchen wurden nach einer gewissen Behandlungszeit von den Kolloiden abzentrifugiert, in isotonischen NaCl-Lösungen aufgeschwemmt und diesen Aufschwemmungen steigende Beträge destillierten Wassers zugesetzt.

Dabei zeigte sich, daß hydrophile Kolloide die Resistenz roter Blutkörperchen, an den Hämolysengrenzen gemessen, dem Wasser gegenüber erniedrigen, hydrophobe aber erhöhen. Die Veränderung der Wasserresistenz ist eine beträchtliche. Während die Kontrollen (rote Blutkörperchen von Schafen) bei 0.62% NaCl-Gehalt hämolysieren, tritt nach Vorbehandlung mit hydrophilen Kolloiden die Hämolyse schon bei 0.72 % NaCl und nach Vorbehandlung mit hydrophoben Kolloiden erst bei 0.50% NaCl-Lösung ein. Bei gleich bleibendem Ionengehalt schwankt also die Hämolysengrenze je nach der Art der in der Reaktion anwesenden Kolloide zwischen 0.72% und 0.50% NaCl. Die Wirkung der hydrophilen kann durch hydrophobe aufgehoben werden und umgekehrt, ohne Rücksicht auf die chemische Beschaffenheit der verwandten Stoffe.

Es gelang durch Volumenbestimmung im Quellungs- und Entquellungsversuch die Zellgrenzschicht als Angriffsort der Kolloidwirkung zu lokalisieren. Die mit hydrophilen Kolloiden vorbehandelten und verglichen mit den Kontrollen weniger wasserresistenten roten Blutkörperchen nehmen im Quellungsversuch bei gleichem osmotischem Druck größere und im Entquellungsversuch kleinere Volumina an als die Kontrollen. Es kann also durch die Vorbehandlung mit hydrophilen Kolloiden das Gesamtprotoplasma nicht hydrophiler geworden sein und im Quellungsversuch mehr Wasser angezogen haben, als die Zellgrenzschicht ohne Verletzung einschließen konnte, weil ein solches Protoplasma der Entquellung größeren Widerstand entgegensetzen müßte als die Kontrollen. Da im Entquellungsversuch das Gegenteil der Fall ist, und die mit hydrophilen Kolloiden vorbehandelten roten Blutkörperchen kleinere Volumina annehmen als die Kontrollen, kann es sich nur um eine Erleichterung des Wasserein- und -austrittes durch die Zellgrenzschichten handeln. Um eine Erschwerung des Wasserein- und -austrittes handelt es sich bei den wasserresistenteren, mit hydrophoben

Kolloiden vorbehandelten roten Blutkörperchen, weil sie bei gleichem osmotischem Druck im Quellungsversuch kleinere und im Entquellungsversuch größere Volumina annehmen als die Kontrollen.

In gleicher Weise wie zur Prüfung der Wasserresistenz mit Cholesterin und Lecithin vorbehandelte rote Blutkörperchen wurden, in verschiedenen isotonischen Neutralsalzlösungen aufgeschwemmt, der Wirkung von Säuren und Basen ausgesetzt, und die Hämolysegrenze mit denen der Kontrollen verglichen. Es zeigte sich, daß freies Cholesterin (und in Stichproben ebenso verestertes Cholesterin) rote Blutkörperchen vor der Säurewirkung ebenso schützen wie vor der des Wassers. Diese Resistenzsteigerung Säuren gegenüber war bei allen geprüften anorganischen und organischen bis hinauf zur Buttersäure zu beobachten. Die Resistenzsteigerung ist in verschiedenen Neutralsalzlösungen verschieden hoch. Diese Erscheinung ist auf eine Interferenz zwischen Cholesterin- und Kationenwirkung zurückzuführen. In Neutralsalzlösungen mit gleichen Anionen aber verschiedenwertigen Kationen steigt der Cholesterineffekt mit der Wertigkeit der Kationen. In isotonischen $CaCl_2$-Lösungen z. B. vertragen die mit Cholesterin vorbehandelten roten Blutkörperchen 6 mal größere Säuremengen ohne Hämolyse als die Kontrollen. In Neutralsalzlösungen mit einwertigem Kation ist die Resistenzsteigerung der mit Cholesterin vorbehandelten roten Blutkörperchen Säuren gegenüber verglichen mit den jeweiligen Kontrollen, wesentlich geringer. In Gemischen von Neutralsalzlösungen mit gleichen Anionen aber ein- und zweiwertigen Kationen wird der hohe Cholesterineffekt, der zusammen mit zweiwertigen Kationen zustande kommt, durch einwertige Kationen gesenkt, der niedrige Cholesterineffekt zusammen mit einwertigen Kationen durch zweiwertige erhöht. Auf den Cholesterineffekt wirken mit anderen Worten ein- und zweiwertige Kationen antagonistisch. Lecithin senkt die Resistenz roter Blutkörperchen gegen Säuren, anorganische sowohl als orga-

nische bis hinauf zur Buttersäure. In verschiedenen Neutralsalzlösungen ist der Lecithineffekt verschieden hoch. Der höchste Lecithineffekt kommt zusammen mit K-Salzen zustande. In isotonischen KNO_3-Lösungen vertragen die mit Lecithin vorbehandelten roten Blutkörperchen ohne Hämolyse nur die Hälfte der Säuremengen wie die Kontrollen. Die Wertigkeit der Kationen spielt für den Lecithineffekt keine Rolle. Ein Kationenantagonismus ist aber auch auf den Lecithineffekt insofern nachweisbar, als der geringe Li-Lecithineffekt durch K erhöht und der hohe K-Lecithineffekt durch Li gesenkt werden kann. Ebenso wie bei der Wasserresistenz ist die Wirkung der hydrophilen Kolloide auf die Säureresistenz durch hydrophobe aufhebbar und umgekehrt. Entsprechend der Interferenz zwischen Kolloid- und Ionenwirkung ist der Umfang der gegenseitigen Beeinflußbarkeit in verschiedenen Neutralsalzlösungen verschieden hoch.

Lecithin senkt in ganz eklatanter Weise die Resistenz roter Blutkörperchen gegen Basen. Mit Lecithin in Blutserumkonzentration vorbehandelte rote Blutkörperchen hämolysieren bei 100fach geringeren Ammoniakbeträgen als die Kontrollen. Eine Interferenz mit Ionenwirkung war nicht festzustellen. Dieser mächtige Lecithineffekt ist durch Cholesterin restlos aufhebbar. Cholesterin erhöht die Resistenz roter Blutkörperchen Basen gegenüber, aber im Gegensatz zur Steigerung der Säureresistenz in theorethisch außerordentlich interessanter Weise nur für Minutenfrist.

Fragt man sich nun, welche Schlüsse sich aus den Spranger'schen Untersuchungen über die Permeabilitätsänderungen roter Blutkörperchen unter der Wirkung verschiedener Lipoide für die Frage ziehen lassen, ob die untersuchten Lipoide an lebendem Protoplasma die gleichen Veränderungen hervorrufen wie in den Spranger'schen Modellösungen, so läßt sich Folgendes sagen: Die gleichen Kolloide, die in der Modellösung eine Dispersion von Fett in Wasser hervorrufen und eine Phasenform schaffen, die mit Wasser ver-

dünnbar ist, setzen die Resistenz roter Blutkörperchen gegen Wasser und wasserlösliche Säuren und Basen herab. Die gleichen Kolloide, die in Modellösungen das Fett entmischen und bei genügender Konzentration eine mit Wasser unverdünnbare Phasenform hervorrufen, steigern die Resistenz roter Blutkörperchen gegen Wasser und wasserlösliche Säuren. Die Resistenzsteigerung gegen Basen ist bezeichnender Weise, verglichen mit der Säure gegenüber, eine außerordentlich kurze und nur minutenlang nachweisbar, während die Resistenzsteigerung Säuren gegenüber stundenlang zu beobachten ist. Ebenso wie in Modellösungen die Wirkung der hydrophilen Kolloide auf die Verteilung von Fett und Wasser durch hydrophobe aufhebbar ist, ebenso konnte die resistenzverändernde Wirkung der einen Kolloidklasse durch die andere aufgehoben werden. Betrachtet man die Interferenz der Kolloid- und Ionenwirkung auf die Veränderung der Resistenz roter Blutkörperchen Säuren gegenüber, so ist auch dabei die in einfachen Systemen beobachtete Interferenz zwischen Kolloid- und Ionenwirkung auf die Verteilung von Fett und Wasser ineinander erkennbar. Der Cholesterineffekt ist der höchste in Neutralsalzlösungen mit zweiwertigen Kationen, ein niedrigerer in Neutralsalzlösungen mit einwertigem Kation. Werden mit Cholesterin vorbehandelte rote Blutkörperchen in Gemischen von Neutralsalzlösungen mit einwertigen und und zweiwertigen Kationen gebracht, so ist ein Ionenantagonismus auf den Cholesterineffekt klar nachweisbar. Die gleichen Erscheinungen wurden von andern Untersuchern in einfachen Systemen beobachtet: Neutralsalzlösungen mit einwertigem Kation haben ein leichter adsorbierbares Anion, das die negative Ladung der Fettmassenteile verstärkt und eine mit Wasser verdünnbare Dispersion stabilisiert. Neutralsalzlösungen mit mehrwertigen Kationen haben ein leichter adsorbierbares Kation, das die negativ geladenen Fettmassenteile entlädt, ein Zusammenfließen der Fettmassenteile herbeiführt und bei einem entsprechenden Ionenüberschuß

die Phase dreht, Wasser in Fett dispergiert und eine mit Wasser unverdünnbare Phasenform hervorruft. In einfachen Systemen wirken die Anionen der Neutralsalze mit einwertigen Kationen antagonistisch, in Neutralsalzlösungen mit zweiwertigen Kationen synergetisch auf den Cholesterineffekt. Dem entsprechen z. B. die geringen Cholesterinwirkungen auf die Säureresistenz in NaCl, die hohen Cholesterinwirkungen in $CaCl_2$-Lösungen und der Kationenantagonismus in Neutralsalzlösungen mit ein- und zweiwertigen Kationen. Für Phasenänderungen an der Zellgrenzschicht im Sinne einer W/O oder O/W spricht auch die Tatsache, daß ein Cholesterin-Säureeffekt zustande kommt, ein Cholesterin-Baseneffekt aber nicht. H^+ plus Cholesterin wirken an sich synergetisch für eine W/O. Gegenüber diesem Synergismus der H-Ionen und des Cholesterins ist in allen Neutralsalzlösungen sowohl in solchen mit leicht adsorbierbaren und infolgedessen antagonistischen Anionen als in solchen mit leicht adsorbierbaren und infolgedessen synergetischen Kationen eine Resistenzsteigerung nachweisbar. OH^- plus Cholesterin wirken an sich auf die W/O Bildung als Antagonisten. OH^- ist ein besonders wirksames, leicht adsorbierbares Anion, infolgedessen bleibt eine Resistenzsteigerung Basen gegenüber aus. Auch der ganz eklatante Lecithin-Baseneffekt, die außerordentliche Erniedrigung der Basenresistenz gegenüber dem geringeren Lecithin-Säureeffekt können mit Beobachtungen in einfachen Systemen und den Interferenzen von Lipoid- und Ionenwirkung auf die Verteilung von Wasser und Fett erklärt werden. Lecithin plus OH^- sind die mächtigsten synergetischen Faktoren zur Bildung einer wasserpermeablen O/W. H^+ plus Lecithin sind Antagonisten für die Bildung einer O/W: Der Lecithin-Baseneffekt ist wesentlich größer als der Cholesterin-Säureeffekt. (Siehe Schema Seite 5). Die Hypothese, daß die von Degkwitz und seinen Mitarbeitern beobachtete Wirkung der Lipoide auf das Eindringungsvermögen von Wasser und wasserlöslichen Säuren

und Basen dadurch zustande kommt, daß die von ihnen untersuchten Kolloide zusammen mit den Ionen die Struktur der Zellgrenzschichten im Sinne einer O/W und W/O beeinflussen, wurde zur Diskussion gestellt. (Siehe Schema Seite 5).

Der berichtete Weg über Modellösungen, Paramaecien und roten Blutkörperchen wurde in einer Klinik nur gegangen, weil man sich aus dem Versuch, die mächtigen klinischen Effekte der zur Zeit im Vordergrund des ärztlichen Interesses stehenden Speziallipoide auf einfache physikalische Vorstellungen zurückzuführen, einen klinischen Gewinn versprach. Aus taktischen Gründen wurde zuerst der Versuch gemacht, Anhaltspunkte über den Wirkungsmechanismus normaler, zu jeder Zeit in jeder Zelle enthaltener Lipoide zu gewinnen. Mit dem Ergebnis: Die Lipoide haben Einfluß auf die Wasser-, Säure- und Basendurchlässigkeit roter Blutkörperchen, mußten die Untersuchungen von Degkwitz und seinen Mitarbeitern zunächst von reinbiologischen Problemen auf klinische gerichtet werden und zwar auf die Frage, ob die gleichen Stoffe in gleicher Weise im Säugetierorganismus wirksam sind und und auch da in den Wasser- und Säure-Basenhaushalt eingreifen. Darüber soll im Folgenden berichtet werden:

Die Frage sollte an Kaninchen geklärt werden, 1. weil diese Tiere leicht in großen Mengen zu beschaffen und 2. leicht intravenös zu injizieren sind. Degkwitz und seine Mitarbeiter hatten die Absicht, die Frage, ob die von ihnen untersuchten Lipoide im Säugetierorganismus in den Wasser- und Säure-Basenhaushalt eingreifen, vorerst nicht durch Lipoidfütterung, sondern durch die parenterale Injektion von Lipoiden zu entscheiden. Durch die Arbeiten von Wacker, Hueck und anderen ist bekannt, daß auf die Fütterung eines Einzellipoides hin der Gesamtblutlipoidkomplex ansteigt. Degkwitz und seinen Mitarbeitern lag zunächst daran, endogen entstehende, einseitige Lipaemieen nachzuahmen und deren Wirkung zu prüfen. Zu diesem Zweck sollten

den Tieren die verschiedenen Lipoide in gut disperser Form intravenös injiziert werden.

Zur Herstellung der intravenös zu injizierenden Lipoidlösungen und -suspensionen wurde folgendermaßen vorgegangen: Die Firma Merck lieferte frisch bereitetes, hellgelbes, reinstes Lecithin vom Ei in N-Atmosphäre in braunen Ampullen eingeschmolzen. Dieses hellgelbe Lecithin wurde in Aether gelöst — 4 g in 200 Aether — und in einen Vakuumkolben gebracht, der 200 cc destilliertes Wasser enthielt. Bei Zimmertemperatur und in N-Atmosphäre und bei einem mäßigen Wasserstrahlpumpen-Vakuum wurde jetzt der Aether langsam vertrieben. Nach seiner restlosen Vertreibung blieb eine 2 %ige Lecithinlösung übrig, die durch Watte filtriert, ¼ Stunde mit N durchgewirbelt und über Nacht in N-Amosphäre im Eisschrank aufbewahrt wurde. Kurz vor der Injektion am nächsten Morgen wurde der benötigten Lecithinlösung soviel Traubenzucker zugesetzt, daß eine isotonische Lösung entstand. Cholesterinsuspensionen: Neutrales destilliertes Wasser 500 cc werden auf 25° erwärmt, 2 Tropfen einer n/10 Natronlauge zugesetzt, 2.5 cc einer 1 %igen Cholesterin-Ozonidlösung in Aceton unter lebhaftem Durchrühren mit einer Spritze eingespritzt, um sofort eine möglichst homogene Verteilung zu erreichen. Darauf werden unter lebhaftem Umrühren 4 mal je 10 cc einer 1% igen Cholesterinlösung mit einer Spritze eingespritzt und auf einem Wasserbad in etwa 3—4 Stunden auf ein Volumen von 250 cc eingedampft. Darauf läßt man wieder auf 25° abkühlen, füllt mit gleich warmem neutralem destilliertem Wasser wieder bis auf 500 cc auf und injiziert nochmals 3 mal 10 cc Cholesterin unter lebhaftem Umrühren. In etwa 6 Stunden wird auf dem Wasserbad auf 100 cc eingedampft, durch Watte filtriert, das Filtrat mit N durchgewirbelt und in N-Atmosphäre im Eisschrank aufbewahrt. Kurz vor der Injektion wird soviel Traubenzucker zugesetzt, daß eine isotonische Lösung entsteht. 100 cc der isotonischen Traubenzuckerlösung enthalten dann 0.5—0.6 g

Cholesterin und 25 mg ursprünglichen Cholesterin-Ozonids, die als Emulgator zugesetzt wurden, aber im Laufe der langen Erhitzung größtenteils in Bruchstücke zerfallen waren. Lecithinlösungen und Cholesterinsuspensionen bis 50 cc, 2 %ige Lecithinlösungen und 0.6 %ige Cholesterinsuspensionen in isotonischen Traubenzuckerlösungen wurden von Tieren mit einem Gewicht von etwa 2500 g reaktionslos vertragen. Die im Ramen des Versuches verwandten Ergosterinsuspensionen wurden in gleicher Weise hergestellt wie die Cholesterinsuspensionen, und hatten eine Konzentration von 0.3%. Das von Degkwitz und seinen Mitarbeitern verwandte bestrahlte Ergosterin in wässeriger Lösung wurde in N-Atmosphäre in einem Laboratoriumsmodell einer bekannten Milchbestrahlungsapparatur bestrahlt, nach der Bestrahlung Traubenzucker zugesetzt und sofort injiziert.

Die zum Versuch verwandten Kaninchen wurden 8 Tage lang auf eine Kleie/Häckselkost gesetzt, (Kleeheuhäcksel, Roggenkleie). Die Tagesportion pro Tier enthielt 120 cc Wasser. In den letzten 3 Tagen vor dem Versuch wurden die Tiere quantitativ ernährt. Es wurde mit Absicht eine Trockenkost gewählt, um eine gewisse Wasseravidität der Gewebe zu erzeugen. Es wurden immer Tiergruppen zu 6 Tieren mit einem Gruppendurchschnittsgewicht von 14 kg verwandt. Jedes Tier kam nur einmal in den Versuch. Um 8 Uhr morgens am ersten Versuchstag nüchtern (letzte Nahrungsaufnahme bis 19 Uhr des vorhergehenden Tages) erhielt jedes Tier 40 cc isotonischer Traubenzuckerlösung intravenös, die bei den Lecithintieren 0.6 g Lecithin und bei den Cholesterintieren 0.15 g Cholesterin enthielten, und eine halbe Stunde später 40 cc Leitungswasser mit dem Magenschlauch. Um 12 Uhr bekam jedes Tier 50 cc einer Spinatzuckerlösung mit dem Magenschlauch (25 g Büchsenspinat der gleichen Fabrikationsnummer, 7 % Rohrzucker). Um 15 Uhr erhielt jedes Tier nochmals 40 cc Traubenzuckerlösung intravenös, die bei den Lecithintieren 0.6 g Lecithin nnd bei den

Cholesterintieren 0.15 g Cholesterin enthielten. Um 18 Uhr wurden die Gruppenurine gesammelt, jedes Tier herzpunktiert und die Gruppenblute vermischt. Um 19 Uhr erhielt nochmals jedes Tier 50 cc der gleichen Zuckerspinatlösung mit dem Magenschlauch. Von da an wurde nicht mehr gefüttert. Um 10 Uhr des nächsten Versuchstages wurde jedes Tier herzpunktiert und die Gruppenblute vermischt, um 12 Uhr die Gruppenurine gesammelt und der Versuch abgebrochen.

An den Gruppenurinen wurden bestimmt: Die Urinmenge, die Cl- und P-Konzentration und die absolute Urin-, Cl- und P-Ausscheidung. Cl wurde nach der Vollhardt'schen Methode, P nach der Uranylnitrat-Tüpfelmethode bestimmt. Im Gruppenblut wurde der Blutzucker, die Eiweiß-, Cl-, Ca-, und anorganische P-Konzentration im Serum, und die Plasma-Alkalireserve bestimmt. Zur Bestimmnng der Alkalireserve wurde das Gruppenblut in einem Tonometer bei 38° einer Kohlensäurespannung von 40 mm Quecksilber ausgesetzt, das Blut unter Paraffin aufgefangen, die roten Blutkörperchen abzentrifugiert und im Plasma nach van Slyke gasvolumetrisch oder titrimetrisch, sehr häufig unter gleichzeitiger Verwendung beider Methoden die Bestimmung vorgenommen. Der anorganische Serum-P wurde nach Bell-Doisy, das Serum-Ca nach Kramer-Tysdall, das Serum-Cl nach van Slyke, Blutzucker nach Hagedorn-Jensen und das Serum-Eiweiß nach Kjeldal bestimmt.

Wenn die Tiere mit Säure belastet wurden, so bekamen sie ebenso wie die Kontrollen morgens nüchtern 40cc Wasser mit dem Magenschlauch. Diese 40 cc Wasser enthielten dann 0.8 g Salmiak, bei Alkalibelastung 3.2 g Natriumbikarbonat. Die Urinwerte der folgenden Tabelle sind auf 20 kg Tier berechnet. Die verschiedenen Serum-, Blut-, und Plasmabestimmungen sind in den Tabellen unter dem Schlagwort Blut zusammengefaßt. Sämtliche Tabellenwerte sind Durchnittswerte von mindestens 4 Gruppen von 6, d. h. je-

desmal Durchschnittswerte von mindestens 24 Tieren. Den meisten Tabellenzahlen liegen aber noch wesentlich höhere Tierdurchschnittswerte zugrunde.

Im Folgenden soll lediglich die Wirkung von intravenös injiziertem Cholesterin, bestrahltem und unbestrahltem Ergosterin nach Wasser- und Säurebelastung untereinander und mit den Kontrollen verglichen werden. Die Ergebnisse von Versuchen mit Lecithininjektionen und Wasser- Säurebelastung, mit injiziertem Lecithin und Cholesterin und Alkalibelastung und die Ergebnisse von Wasser und Säurebelastung bei mit Cholesterin und Lecithin gefütterten Tieren werden von Dahmlos und Solé in der Biochemischen Zeitschrift 1930 veröffentlicht werden.

Werden gleich gefütterte und gehaltene Tiere (Kaninchen) mit Cholesterin intravenös injiziert und mit Wasser belastet, so steigt in der ersten Ausscheidungsperiode bei den Cholesterintieren, verglichen mit den Kontrollen, die Wasserausfuhr durch die Niere deutlich an. Trotz der erhöhten Urin-Ausscheidung ist die Cl-Konzentration im Urin und die Urin-Gesamtausscheidung höher als bei den Kontrollen. Das Blut der Cholesterintiere ist trotz verstärkter Wasserausscheidung wesentlich hydrämischer als das der Kontrollen und die Serum-Cl-Werte trotz der verstärkten Cl-Ausscheidung wesentlich höher als bei den Kontrollgruppen. Auch in der zweiten Ausscheidungsperiode ist die Urin-Cl-Konzentration und die Gesamt-Cl-Ausscheidung höher als bei den Kontrolltieren.

Werden gleich gefütterte und gehaltene Kaninchen mit den gleichen Wassermengen belastet wie im ersten Versuch und wird ihnen gleichzeitig Salmiak verabreicht, so schränken die Kontrolltiere, verglichen mit dem reinen Wasserversuch, ihre Wasserausscheidung ein, während sie bei den Cholesterintieren enorm ansteigt. Die absolute Urin-Cl-Ausscheidung ist bei den Cholesterintieren mehr als 3 mal größer als die der Kontrollen, die Gesamtwasserausscheidung eben-

falls. Die Cl-Konzentration der Cholesterintiere ist trotz der enormen Urinmenge kaum geringer als die der Kontrollen. Besonders auffallend ist aber, daß trotz der enormen Urin-Cl-Ausfuhr die Serum-Cl-Werte der Cholesterintiere über denen der Kontrollen liegen.

Dahmlos und Solé beschreiben die Wirkung einer parenteral gesetzten Hypercholesterinämie folgendermaßen: Sie führt zu einer Erhöhung der Serum- und Urin-Cl-Konzentrationen, zu einer Erhöhung der Urin-Cl-Ausfuhr, zur Vermehrung der Urinmengen und zur Hydrämie. Bei Tieren, denen eine parenterale Hypercholesterinämie gesetzt wurde, wird nach einer Wasserbelastung Wasser und Cl von den Geweben nach der Niere abgedrängt. Besonders deutlich werden diese Erscheinungen, wenn eine Hypercholesterinämie bei solchen Tieren gesetzt wird, die zu gleicher Zeit mit Wasser+Säure belastet werden: Wasser und Cl werden dann in besonders eindrucksvoller Weise von den Geweben nach der Niere abgedrängt.

Spranger hatte in Stichversuchen bei seinen Permeabilitätsstudien an roten Blutkörperchen gefunden, daß die Wirkung des hydrophoben Kolloides Ergosterin im Prinzip der des Cholesterins glich. Man hätte der Meinung sein können, daß die von Dahmlos und Solé beschriebene Wirkung parenteral injizierten Cholesterins ein unspezifischer Effekt auf die Injektion einer chemisch indifferenten Suspension hin gewesen wäre. Ein Blick auf die Tabelle auf Seite 26 zeigt, daß intravenös injiziert Ergosterin und Cholesterin ganz verschieden wirksam sind. Während eine parenteral gesetzte Hypercholesterinämie, verglichen mit den Kontrollen, bei reiner Wasserbelastung die Urinausfuhr steigert, schränken sie die Ergosterintiere ein, besonders stark das unbestrahlte Ergosterin. Während eine parenteral gesetzte Hypercholesterinämie die Urin-Cl-Konzentration erhöht, wird sie durch die Ergosterine gesenkt. Während eine Hypercholesterinämie, verglichen mit den Kotrollen, die Urin-P-Kon-

zentration unbeeinflußt läßt, steigern die Ergosterine die Urin-P-Konzentration.

Wird bei gleich bleibenden Wassermengen mit Säure belastet, so steigern die Ergosterine, verglichen mit ihren Ausscheidungen beim reinen Wasserversuch, ihre Urinmengen ein wenig. Diese Steigerung kann mit der durch Cholesterin hervorgerufenen aber nicht verglichen werden. Während die Kontrollen 517 cc und die Cholesterintiere 1657 cc ausscheiden, betragen die Urinmengen bei unbestahltem Ergosterin 943 und bei bestrahltem 851 cc. Während aber bei Säurebelastung die Kontrollen und Cholesterintiere ihre Urin-P-Konzentration erniedrigen, um den im Stoffwechsel entstehenden Cl-Anionenüberschuß mit dem Urin entfernen zu können, steigern die Ergosterintiere trotz Salmiakbelastung und trotz des im Stoffwechsel entstehenden Cl-Anionenüberschusses ihre Urin-P-Konzentration noch über die Zahlen beim reinen Wasserversuch hinaus.

Ebenso wie der Steigerung der Urin-Cl-Konzentration durch Cholesterine eine Steigerung der Serum-Cl-Werte parallel ging, ebenso geht bei den Ergosterinen der Steigerung der Urin-P-Konzentration eine Steigerung des anorganischen Serum-P parallel. Während also eine Hypercholesterinämie eine Erhöhung der Serum- und Urin-Cl-Werte herbeiführt, verursacht eine Hyperergosterinämie einen Konzentrationsanstieg von P in Urin und Serum.

Die Steuerung des Anion Cl durch Cholesterin war bisher unbekannt, bekannt aber die Steuerung des Serum-P durch bestrahltes Ergosterin. Was aber bei den Versuchen von Dahmlos und Solé auffiel, war, daß unbestrahltes Ergosterin intravenös injiziert im Prinzip ebenso wirkt wie das bestrahlte. An dieser Stelle setzten meine eigenen Untersuchungen ein. Bevor darauf näher eingegangen wird, sollen die Urin- und Serum- P- und Ca-Werte bei Wasser- und Säurebelastung bei den Kontrollen, Cholesterin- und Ergosterintieren kurz besprochen werden:

I. Ausscheidungs-Periode.

		Wasser	Wasser + Cholosterin	Wasser + unbestrahltes Ergosterin	Wasser + bestrahltes Ergosterin	Wasser + Säure	Wasser + Cholosterin + Säure	Wasser + unbestrahltes Ergosterin + Säure	Wasser + bestrahltes Ergosterin + Säure
Urin	H_2O	298 cc	435 cc	110 cc	183 cc	205 cc	907 cc	312 cc	298 cc
	Cl	0.300 101 mg %	0.479 110 mg %	0.102 92 mg %	0.176 96 mg %	0.520 253 mg %	2.125 234 mg %	0.478 190 mg %	0.632 179 mg %
	P	0.452 152 „	0.677 155 „	0.233 212 „	0.491 275 „	0.255 124 „	0.835 92 „	0.837 243 „	0 748 328 „
Blut	Eiweiß	636 „	564 „	566 „	608 „	560 „	569 „	591 „	575 „
	Zucker	102 „	110 „	111 „	108 „	124 „	95 „	114 „	108 „
	Cl	609 „	621 „	623 „	636 „	692 „	699 „	693 „	687 „
	P	6.32 „	5.91 „	4.76 „	6.12 „	6.12 „	6.45 „	5.94 „	6.76 „
	Ca	11.4 „	11.60 „	11.80 „	12.35 „	12.35 „	10.8 „	13.20 „	13.20 „
	Alkali-Reserve	44 Vol %	44.5 Vol %	47.6 Vol %	47.1 Vol %	28 Vol %	27.8 Vol %	32 Vol %	37 Vol %

II. Ausscheidungs-Periode.

Urin	H_2O	605 cc	596 cc	350 cc	570 cc	312 cc	750 cc	631 cc	553 cc
	Cl	0.335 62 mg %	0.435 42 mg %	0.147 52 mg %	0.299 52 mg %	0.656 220 mg %	1.530 204 mg %	1.198 190 mg %	0.986 179 mg %
	P	0.808 140 „	0.787 132 „ %	0.738 21.1 „ %	1.509 264 „ %	0.371 118 „	0.638 85 „	1.539 243 „	1.810 328 „
Blut	Eiweiß	630 „	650 „	575 „	605 „	588 „	633 „	593 „	593 „
	Zucker	106 „	112 „	111 „	106 „	124 „	92 „	102 „	108 „
	Cl	612 „	608 „	626 „	629 „	656 „	678 „	671 „	670 „
	P	6.11 „	6.09 „	9.72 „	11.24 „	6.36 „	5.57 „	9.10 „	12.80 „
	Ca	11.00 „	11.90 „	11.00 „	12.90 „	12.55 „	11.30 „	13.10 „	14.46 „
	Alkali-Reserve	49.3 Vol %	46.1 Vol %	46.1 Vol %	49.2 Vol %	37.9 Vol %	33.6 Vol %	42 Vol %	41.8 Vol %

Gesamtausscheidung.

Urin	H_2O	903 cc	1031 cc	460 cc	753 cc	517 cc	1657 cc	942 cc	851 cc
	Cl	0.635 70 mg %	0.914 88.5 mg %	0.249 54 mg %	0.475 63 mg %	1.176 227 mg %	3.655 221 mg %	1.676 178 mg %	1.618 190 mg %
	P	1.264 149 „ %	1.464 142 „	0.971 212 „	1.900 252 „	0.626 121 „	1.473 89 „	2.376 252 „	2.558 300 „

Vom bestrahlten Ergosterin dem sogenannten Vitamin D, dem mächtig wirksamen Antirachitikum ist bekannt, daß es sowohl enteral wie parenteral (bisher subkutan untersucht) verabreicht die Serum- und Urin-P-Konzentration erhöht, und bei Verabreichung in hohen Dosen, die Serum-Ca-Konzentration erhöht und im Herzmuskel, in Nieren und in Gefäßen sklerotische Ca-herde entstehen läßt. Während der rachitischen Erkrankung ist der anorganische Serum-P erniedrigt. Diese Hypophosphatämie wird von einer Reihe von Rachitisforschern für die Hauptursache des rachitischen Krankheitsprozesses gehalten. Wird bestrahltes Ergosterin parenteral oder enteral verabreicht, so beginnt sich der Serum-P zu erhöhen und parallel dieser Erhöhung setzen Heilungsvorgänge am rachitischen Skelett ein. Ein normaler Serum-P-Wert wird beim Menschen als Indikator für eine nicht oder nicht mehr bestehende Rachitis gewertet.

Daß beide verwandte Ergosterinarten in den beschriebenen Versuchen, das bestrahlte sowohl wie das unbestrahlte, im Urin die P-Konzentration erhöhten, wurde schon ausgeführt. Fragt man nun, ob das unbestrahlte Ergosterin in den Dahmlos und Solé'schen Versuchen nicht nur die gleiche Wirkung auf den Urin-P wie das bestrahlte, sondern auch auf den Serum-P hatte, so zeigt sich, daß am Ende der zweiten Ausscheidungsperiode nicht nur bei den Tieren, die bestrahltes Ergosterin sondern auch bei denen, die unbestrahltes Ergosterin erhalten hatten, die Serum-P-Werte erhöht sind. Betrachtet man also die Dinge am Versuchsausgang, Ende der zweiten Ausscheidungsperiode und die Gesamtausscheidung, so wäre zu sagen, daß bestrahltes und unbestrahltes Ergosterin, den Kaninchen intravenös injiziert die gleiche Wirkung erzielen: Erhöhung der Urin- und Serum-P-Konzentrationen.

Dieses Ergebnis ist so überraschend und widerspricht so sehr den theoretischen Anschauungen über die Rachitis-Ätiologie und Pathogenese, daß sie vorerst näher analysiert

werden muß. Betrachtet man die Serum-P-Werte am Ende der ersten Ausscheidungsperiode, so zeigt sich, daß das bestrahlte Ergosterin bei reiner Wasserbelastung den Serum-P-Wert auf wesentlich niedere Konzentration als bei den Kontrollen senkt und erst in der zweiten Ausscheidungsperiode erhöht. Bei Säurebelastung liegen im Prinzip die gleichen Erscheinungen vor. Das bestrahlte Ergosterin steigert bei Säurebelastung sehr wenig, während das unbestrahlte Ergosterin wieder den niedrigsten Serum-P-Wert hat. Bei reiner Wasserbelastung fällt weiterhin vom unbestrahlten Ergosterin auf, daß es wohl die Urin-P-Konzentration steigert und die Serum-P-Konzentration in der zweiten Ausscheidungsperiode, daß aber die Gesamturin-P-Ausscheidung mit bestrahltem Ergosterin viel niedriger ist als die der Kontrollen und der mit bestrahltem Ergosterin behandelten Tiere.

Wenn auch unbestrahltes Ergosterin, am Versuchsende betrachtet, im Urin und Serum die bekannten Wirkungen des bestrahlten Ergosterins entfaltet: Erhöhung der Serum- und Urin-P-Konzentration, in seiner Wirkung auf den Blut-Ca unterscheidet es sich deutlich vom bestrahlten Ergosterin. Bei reiner Wasserbelastung läßt das unbestrahlte Ergosterin den Serum-Ca völlig unbeeinflußt, während ihn das bestrahlte Ergosterin in bekannter Weise erhöht. Bei Säurebelastung fallen allerdings diese Unterschiede wieder weg: Bestrahltes und unbestrahltes Ergosterin, bei Säurebelastung mit einander verglichen, unterscheiden sich am Versuchsende in ihrer Wirkung auf Blut-Ca und P nicht.

Da nun in der Theorie der Rachitis-Pathogenese die Hypophosphatämie als Hauptstück betrachtet wird und unbestrahltes Ergosterin parenteral verabreicht, eine Hyperphosphatämie herbeiführt ebenso wie bestrahltes Ergosterin, mußte untersucht werden, ob unbestrahltes Ergosterin parenteral verabreicht parallel der Serum-P-Steigerung des bestrahlten Ergosterins auch Heilungsvorgänge am rachitischen Skelett hervorrufen kann.

Es liegen mehrere Literaturangaben darüber vor, daß unbestrahltes Ergosterin vom Darm aus nicht resorbiert wird. Die Dahmlos und Solé'sche Beobachtung über die gleiche blutchemische und für den rachitischen Prozeß als ausschlaggebend angesehene Wirkung auf den Blut-P, mußte in Zusammenhang mit diesen Berichten die Frage zur Erörterung bringen, ob etwa unbestrahltes Ergosterin, wenn die Darmschranke wegfällt und eine Resorption erzwungen wird, ebenso wie bestrahltes wirkt.

War dies nicht der Fall, zeigte sich, daß unbestrahltes Ergosterin parenteral verabreicht wohl parallel der Wirkung des bestrahlten den Serum-P erhöht, aber Heilungsvorgänge am rachitischen Skelett nicht in Gang bringt, so mußte die Auffassung der Hypophosphatämie als Hauptstück der rachitischen Pathogenese fallen gelassen werden.

Es war also zu prüfen, ob bestrahltes und unbestrahltes Ergosterin, rachitischen Tieren parenteral verabreicht, den rachitischen Krankheitsprozeß in gleicher Weise beeinflussen. Als Versuchstiere wurden wachsende Ratten gewählt, die mit der bekannten Pappenheim'schen Kost 3 Wochen lang ernährt wurden, und von denen zu dieser Zeit Röntgenogramme angefertigt wurden, um die Rachitis-Erkrankung der Tiere sicher zu stellen. Von den verwandten Ergosterinen sollte sicherheitshalber noch geprüft werden, ob das unbestrahlte sowohl als das bestrahlte einwandfreie Substanzen in dem Sinne wären, daß sie keine Verunreinigungen enthielten, das unbestrahlte de facto aktiviertes Ergosterin war.

Dazu wurde folgendermaßen vorgegangen: Es wurden Ergosterin-Suspensionen in der oben beschriebenen Weise hergestellt und ein aliquoter Teil von ihnen in N-Atmosphäre mit einer Vita-Ray Lampe (Milchbestrahlungsmodell) bestrahlt. Sofort nach der Bestrahlung wurde Traubenzucker zugefügt, so daß isotonische Traubenzuckerlösungen entstanden, und einem Teil der Tiere 0.2 cc intraperitoneal verabreicht. Nachdem die Tiere, wie die Röntgenogramme zeigen, bei drei-

wöchentlicher rachitogener Kost sämtlich rachitisch geworden waren, wurden sie während der darauf folgenden 10 Tage 2 mal mit 0.2 cc bestrahlten oder unbestrahlten Ergosterins injiziert. Trockensubstanz-Bestimmungen ergaben, daß jedes Tier mit den beiden Injektionen zusammen 0.6 mg bestrahlten oder unbestrahlten Ergosterins erhalten hatte.

Aliquote Teile der bestrahlten und unbestrahlten Ergosterin-Suspension wurden im chemischen Institut spektrographisch von Herrn Dr. Jung untersucht. Die beiliegenden Kurven zeigen, daß ich reines unbestrahltes und antirachitisch aktiviertes Ergosterin verwandt habe. (Seite 28)

Am 10. Tage nach der ersten Röntgenaufnahme wurden wieder Röntgenogramme angefertigt, um den Effekt parenteraler Injektionen von bestrahltem und unbestrahltem Ergosterin auf das rachitische Skelett zu prüfen. Die Röntgenogramme ergaben einwandfrei, daß nach parenteralen Injektionen bestrahlten Ergosterins prompt Heilungsvorgänge am rachitischen Skelett einsetzen, während sie ceteris paribus bei unbestrahltem Ergosterin ausbleiben.

Zusammenfassung: Obwohl unbestrahltes Ergosterin ceteris paribus, Kaninchen verabreicht, ebenso wie bestrahltes die Serum und Urin-P-Konzentration erhöht, ist es außerstande, bei der Ratte parenteral verabreicht, die gleichen heilenden Wirkungen auf das rachitische Skelett zu entfalten wie das bestrahlte Ergosterin. Da die Serum-Hypophosphatämie als Hauptstück der Pathogenese und die Serum-P-Erhöhung als Hauptstück der Rachitisheilung angesehen werden, nach den vorliegenden Untersuchungen aber bei unbestrahltem, parenteral verabreichtem Ergosterin eine Diskrepanz besteht, sind weitere Untersuchungen in dieser Richtung notwendig.

Extimtions-Koeffizient.

Zum Schlusse der Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Degkwitz für die liebenswürdige Überlassung des Materials, seinen Rat und seine wertvolle Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur-Verzeichnis.

Bancroft: Journal phys. chem. 17 und 19.
Blace: Amer. Journ. of Science 16, 1903.
Blatnagar: Journ. of the chem. soc. 120.
Clowes: Journ. phys. chem. 20, 1916.
Degkwitz: Klinische Wochenschrift Nr. 48, 1929.
Lindner u. *Picton:* Journ. chem. soc. 67, 1895.
Oppenheimer: Handbuch der Biochemie 1925.
Seifritz: Amer. Journ. physiol. 66.
Spranger: Biochemische Zeitschrift Bd. 218 u. 221. H. 4—6.
Wacker u. *Hueck:* Biochemische Zeitschrift Nr. 100.
Wilson u. *Bernard:* Journ. of indust. a. eng. chem. 14, 1922.

Lebenslauf.

Am 16. 8. 1905 wurde ich, Kurt Briola in Greifswald als Sohn des Kaufmanns Michael Briola geboren. Nach Erlangung des Reifezeugnisses am Gymnasium zu Greifswald bezog ich im Jahre 1924 die Universität München, um mich dem Studium der Medizin zu widmen. Ostern 1927 bestand ich in Greifswald die ärztliche Vorprüfung, woselbst ich meine klinischen Studiensemester zubrachte und im W.-S. 1929/30 mein Staatsexamen ablegte.